

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Новиков М.А., Вокина В.А., Андреева Е.С., Алексеенко А.Н., Соседова Л.М.

Экспериментальное исследование гонадотоксического эффекта дыма лесных пожаров

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»,
665827, Ангарск

Введение. Изучение последствий задымления воздуха при природных пожарах на репродуктивную систему является актуальной научной проблемой в настоящее время.

Материал и методы. Половозрелых беспородных крыс-самцов подвергали ежедневному ингаляционному воздействию дыма в течение одной и четырёх недель соответственно по 4 ч в день. Сразу после окончания воздействия животных декапитировали под лёгким эфирным наркозом для проведения исследования морфофункционального состояния репродуктивной системы, которое включало в себя подсчёт общего количества сперматогониев, числа канальцев со слущенным эпителием, а также определение индекса сперматогенеза и количества клеток Лейдига.

Результаты. Показатели функционального состояния репродуктивной системы самцов белых крыс после экспозиции дымом в течение 1 нед не имели статистически значимых отличий по сравнению с показателями животных контрольной группы. В то же время увеличение длительности воздействия (4 нед) привело к значительным морфофункциональным нарушениям репродуктивной системы самцов белых крыс, характеризовавшимся снижением индекса сперматогенеза с одновременным сокращением процентного содержания сперматогониев и количества интерстициальных клеток Лейдига.

Заключение. Результаты проведённого исследования свидетельствуют о том, что длительное воздействие продуктов горения, выделяющихся при лесном пожаре, привело к угнетению репродуктивной функции у самцов белых крыс.

К л ю ч е в ы е с л о в а : природный пожар; крысы; репродуктивная система; сперматогенез

Для цитирования: Новиков М.А., Вокина В.А., Андреева Е.С., Алексеенко А.Н., Соседова Л.М. Экспериментальное исследование гонадотоксического эффекта дыма лесных пожаров. *Гигиена и санитария*. 2020; 99 (10): 1149-1152. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-10-1149-1152>

Для корреспонденции: Новиков Михаил Александрович, канд. биол. наук, науч. сотр. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований». E-mail: novik-imt@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Финансирование осуществлялось за счёт средств, выделяемых для выполнения государственного задания.

Участие авторов: подготовка статьи, руководство, проведение эксперимента и гистологических исследований, обсуждение результатов – Новиков М.А.; подготовка статьи, аналитическая работа, обсуждение результатов – Вокина В.А.; проведение эксперимента, подготовка гистологических исследований – Андреева Е.С.; проведение аналитических исследований с применением газовой хроматографии, фотометрических методов, отбор проб воздушной среды – Алексеенко А.Н.; консультация по дизайну исследования, обсуждение актуальности и результатов – Соседова Л.М.

Поступила 10.07.2020

Принята к печати 18.09.2020

Опубликована 30.11.2020

Mikhail A. Novikov, Vera A. Vokina, Elizaveta S. Andreeva, Anton N. Alekseenko, Larisa M. Sosedova

Experimental study of the gonadotoxic effect of forest fire smoke

East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665827, Russian Federation

Introduction. The study of the effects of air smoke during natural fires on the reproductive system is the actual scientific problem at present.

Material and methods. The experimental study took place in 2 stages. At the first stage of the study, white male rats were exposed to the smoke-bearing effects of wildfire for 7 days (4 hours a day), and at the second stage, 5 days a week (4 hours a day) for one month. Immediately after the end of the exposure, the animals were decapitated under light ether anesthesia to study the morphofunctional state of the reproductive system, which included counting the total number of spermatogonia, the number of tubules with desquamated epithelium, as well as determining the spermatogenesis index and the number of Leydig cells.

Results. The functional state of the reproductive system of male white rats after exposure to smoke for 1 week did not have statistically significant differences from the animals of the control group. At the same time, an increment in the duration of exposure (4 weeks) led to significant morphological and functional disorders of the reproductive system of male white rats, characterized by a decrease in the spermatogenesis index with a simultaneous decrease in the percentage of spermatogonia and the number of interstitial Leydig cells.

Discussion. Male reproductive health can be a sensitive marker of environmental factors, and there is no evidence of smoke from natural fires in modern literature. This study justifies the need to develop new approaches to the diagnosis and prevention of adverse effects on the body for a long stay in a smoke area.

Conclusion. The results of the study indicate the prolonged exposure to combustion products released during a forest fire to lead to inhibition of reproductive function in male white rats.

Key words : natural fire; rats; reproductive system; spermatogenesis

For citation: Novikov M.A., Vokina V.A., Andreeva E.S., Alekseenko A.N., Sosedova L.M. Experimental study of the gonadotoxic effect of forest fire smoke. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2020; 99 (10): 1149-1152. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-10-1149-1152> (In Russ.)

For correspondence: Mikhail A. Novikov, MD, Ph.D., researcher of the Laboratory of biomodelling and translational medicine, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665827, Russian Federation. E-mail: novik-imt@mail.ru

Information about the authors:

Novikov M.A., https://orcid.org/0000-0002-6100-6292; Vokina V.A., https://orcid.org/0000-0002-8165-8052; Andreeva E.S., https://orcid.org/0000-0002-3709-8676
 Alekseenko A.N., https://orcid.org/0000-0003-4980-5304; Sosedova L.M., https://orcid.org/0000-0003-1052-4601

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The work was performed within the funds allocated for the implementation of the State task for the East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research.

Contribution: Novikov M.A. – preparation of the manuscript, guidance, conducting the experiment and histological studies, discussion of the results; 30 %. Vokina V.A. – preparation of the manuscript, analytical work, discussion of the results; 30 %. Andreeva E.S. – conducting an experiment, preparing histological studies; 20%. Alekseenko A.N. – conducting analytical studies using gas chromatography, photometric methods, sampling of the air; 10 %. Sosedova L.M. – Consultation on research design, discussion of relevance and results; 10 %. All coauthors – approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

Received: July 10, 2020

Accepted: September 18, 2020

Published: November 30, 2020

Введение

В настоящее время проблема лесных пожаров стала общемировой в связи с постоянным возрастанием их масштабов и продолжительным задымлением обширных территорий. Длительное воздействие дыма природных пожаров на население, повторяющееся в некоторых регионах с ежегодной периодичностью, определяет необходимость оценки риска последствий для здоровья различных когорт населения и разработки новых подходов к профилактике. Анализ литературных данных свидетельствует о том, что в рамках многочисленных исследований проведена оценка последствий крупных природных пожаров, произошедших в Индонезии (1997), Австралии (2002, 2009), Калифорнии (2003, 2008), России (2010), результаты которой внесли большой вклад в понимание механизмов патогенеза заболеваний респираторной и сердечно-сосудистой систем в условиях длительного пребывания в очаге задымления [1–6]. Вместе с тем многие аспекты токсического воздействия дыма лесных пожаров на здоровье человека остаются неизвестными. Имеющиеся в отечественной и зарубежной литературе данные о влиянии дыма природных пожаров на репродуктивное здоровье населения крайне малочисленны и недостаточны. Вместе с тем содержание в составе дыма природных пожаров значительного количества потенциальных репро- и генотоксикантов, таких как полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), ацетальдегид, формальдегид, бензол, толуол, хлорметан и т. п., определяет необходимость изучения их влияния на функциональное состояние репродуктивной системы и здоровье последующих поколений в модельных экспериментах.

Целью настоящего исследования являлось изучение морфофункционального состояния репродуктивной системы белых крыс-самцов, подвергавшихся воздействию дыма природных пожаров различной длительности.

Материал и методы

Экспериментальные исследования проведены на 80 половозрелых беспородных белых крысах-самцах с массой тела 180–240 г. Животных опытных групп (О1 и О2, $n = 20$) подвергали ежедневному ингаляционному воздействию дыма в течение одной и четырёх недель соответственно по 4 ч в день с использованием ранее разработанной модели низового ландшафтного пожара [7]. Крысам контрольных групп (К1 и К2, $n = 20$) в камеры подавали чистый воздух. Концентрации оксида углерода в экспозиционной камере составили 13,5–49,7 мг/м³, оксида азота – 0,37–0,7 мг/м³, диоксида азота – 0,18–1,1 мг/м³, фурфурола – 0,18 ± 0,06 мг/м³, формальдегида – 0,018 ± 0,002 мг/м³, ацетальдегида – 0,65 ± 0,12 мг/м³. Температура воздуха в экспозиционных камерах составляла 24–25 °С, относительная влажность – 40–50%.

Сразу после окончания воздействия животных всех групп умерщвляли путём декапитации под лёгким эфирным наркозом для проведения исследования морфофункционального

состояния репродуктивной системы. Для микроскопического исследования сперматогенного эпителия семенники фиксировали в 15% растворе формалина, заливали в парафин, делали срезы 6–7 мкр и окрашивали гематоксилин-эозином. На гистологических препаратах семенников подсчитывали общее количество сперматогоний, число канальцев со слущенным эпителием, рассчитывали индекс сперматогенеза, производили подсчёт клеток Лейдига, приходящихся на поперечный срез одного извитого семенного канальца [8].

Все экспериментальные животные получены путём собственного воспроизводства в виварии ФГБНУ ВСИМЭИ и содержались на стандартном рационе. Работа выполнена с соблюдением правил гуманного отношения к животным в соответствии с требованиями «Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (ВОЗ, Женева, 1985) и «Правилами лабораторной практики» (Приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н).

Статистический анализ результатов исследования проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.1. (StatSoft) (лиц № АХХR004Е642326FA) [9]. Для принятия решения о виде распределения признаков использовали *W*-критерий Шапиро–Уилка. Для сравнения групп применяли *U*-критерий Манна–Уитни. Нулевые гипотезы об отсутствии различий между группами отвергали при достигнутом уровне значимости $p \leq 0,05$. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (*Me* (LQ; UQ)).

Результаты

Результаты проведения морфометрического исследования семенников белых крыс, подвергавшихся воздействию дыма в течение 1 нед, показали, что показатели функционального состояния репродуктивной системы не имели статистически значимых отличий от животных контрольной группы (табл. 1).

Таблица 1

Результаты морфометрического исследования семенников белых крыс, подвергавшихся воздействию дыма в течение 1 нед, *Me* (LQ; UQ)

Показатель	Группа животных	
	К1	О1
Индекс сперматогенеза	3,99 (3,70–4,13)	3,89 (3,77–4,00)
Число канальцев со слущенным эпителием, %	0,8 (0,8–0,8)	0,8 (0,8–0,8)
Среднее число сперматогониев, %	40,4 (40,2–41,6)	40,0 (39,85–40,65)
Относительное количество клеток Лейдига	11,4 (9,2–13,2)	10,4 (10,3–12,5)

Таблица 2

Результаты морфометрического исследования семенников белых крыс, подвергавшихся воздействию дыма в течение 4 нед, Me (LQ; UQ)

Показатель	Группа животных	
	K2	O2
Индекс сперматогенеза	4,0 (3,49; 4,21)	3,09 (1,08; 5,09)*
Число канальцев со слущенным эпителием, %	0,8 (0,6; 1)	0,8 (0,6; 0,9)
Среднее число сперматогониев, %	40,3 (38,9; 41,9)	38,7 (29,8; 42,7)*
Относительное количество клеток Лейдига	11,0 (10,8–13,0)	9,0 (8,7–10,0)*

Примечание. * – Различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$.

В то же время при более длительном воздействии дыма (группа O2) наблюдалось статистически значимое снижение индекса сперматогенеза ($p = 0,03$) с одновременным сокращением процентного содержания сперматогониев ($p = 0,01$). Кроме того, у животных данной группы выявлено значительное снижение относительного количества клеток Лейдига ($p = 0,0015$) (табл. 2).

Обсуждение

Использование экспериментальных моделей даёт широкие возможности для исследования механизмов развития патологии при экспозиции дымом природных пожаров, условия которой могут варьироваться в широких пределах в зависимости от вида пожара. Около 90% от общего числа лесных пожаров составляют низовые лесные пожары, при которых происходит горение не только древесины, но и надпочвенного покрова и растительных остатков различной степени разложения. При этом в атмосферный воздух выделяется сложная смесь токсичных выбросов, в состав которой входят твёрдые частицы диаметром < 10 мкм, окись углерода, оксиды азота и серы (NO_x и SO_x), альдегиды, ПАУ, летучие органические соединения, хлорированные диоксины и свободные радикалы и др. [10, 11]. В настоящее время механизмы отрицательного влияния компонентов дыма на организм человека при вдыхании общеизвестны, однако их токсические эффекты зачастую оценены независимо друг от друга без учёта возможного комбинированного действия. При этом исследования по оценке риска для здоровья лиц, подвергавшихся воздействию дыма, исторически были сосредоточены на респираторных и онкологических заболеваниях. Многие аспекты токсического воздействия дыма лесных пожаров на репродуктивное здоровье остаются неизученными. В то же время известно, что мужское репродуктивное здоровье может быть чувствительным маркером воздействия профессиональных, экологических факторов [12].

Сперматогенез является сложным динамичным процессом, протекающим под контролем специфических генов развивающихся половых клеток и требующим адекватной гормональной регуляции, в которой задействованы гипоталамус и гипофиз. Важнейшим количественным показателем, который характеризует генеративную функцию семенников, является индекс сперматогенеза, отражающий количество слоёв сперматогенных клеток в стенке извитых семенных канальцев [8]. Результаты настоящего исследования показали, что воздействие дыма лесного пожара в течение 4 нед привело к значительному снижению индекса сперматогенеза. Кроме того, выявлено снижение числа сперматогониев, являющихся полипотентными стволовыми клетками сперматогенного эпителия, что также свидетельствует об угнетении процесса сперматогенеза. Обращает на себя внимание ярко выраженное снижение относительного количества клеток Лейдига, выявленное у животных при длительном воздействии дыма. Данные клетки являются основным местом синтеза и секреции андрогенов, в том числе тестостерона, играющего важную роль в регуляции процессов размножения у самцов. При этом состояние интерстициальных клеток также является важным фактором, характеризующим мужской репродуктивный потенциал [13, 14]. Вероятно, воздействие продуктов горения, выделяющихся при лесном пожаре, может оказывать негативное влияние на процессы синтеза тестостерона через подавление ферментных систем клеток аналогично воздействию холодового стресса [15, 16].

В современной литературе отсутствуют данные о влиянии дыма природных пожаров на мужской репродуктивный потенциал. Наиболее широко представлены эпидемиологические исследования последствий нахождения в условиях сильной задымлённости от природных пожаров в период беременности, свидетельствующие о том, что воздействие дыма взаимосвязано с преждевременными родами и низкой массой тела детей при рождении [17, 18]. Экспериментальными исследованиями Горбатовой Д.М. и соавт. показано, что в клетках плацент и эмбрионов крыс, подвергавшихся воздействию торфяного дыма, наблюдается повреждение ДНК [19, 20], кроме того, выявлены эмбриотоксические эффекты и нарушения постнатального развития у потомства.

Заключение

Таким образом, результаты проведённых исследований и современные данные литературы свидетельствуют о том, что проблема исследования репродуктивного потенциала в условиях длительного задымления воздуха при лесных пожарах имеет большое значение на современном этапе. Оценка последствий воздействия дыма лесных пожаров на мужскую генеративную функцию на этапе прогноза, а также понимание комбинированных эффектов при экспозиции обоих родителей может обеспечить более точную оценку риска отдалённых последствий и позволит разработать новые подходы к диагностике и профилактике неблагоприятного воздействия на организм длительного пребывания в очаге задымления.

Литература

(п.п. 1–6, 10–14, 16–18 см. References)

- Вокина В.А., Новиков М.А., Елфимова Т.А., Богомоллова Е.С., Алексеев А.Н., Соседова Л.М. Исследование воздействия эмиссии от лесных пожаров на морфофункциональное состояние центральной нервной системы белых крыс. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(11): 1245–50. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-11-1245-1250>
- Ухов Ю.И., Астраханцев А.Ф. Морфометрические методы в оценке функционального состояния семенников. *Архив анатомии гистологии и эмбриологии*. 1983; 84(3): 66–72.
- Реврова О.Ю. *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA*. М.: МедиаСфера; 2002.
- Саяпина И.Ю., Целуйко С.С. Динамика количественных показателей клеток Лейдига при адаптации организма к низким температурам. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2011; (2): 84–7.
- Горбатова Д.М., Немова Е.П., Соломина А.С., Дурнев А.Д., Середенин С.Б. Пренатальные эффекты продуктов сгорания торфа и их коррекция афобазолом у потомства крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2014; 158: 604–8. <https://doi.org/10.1007/s10517-015-2829-5>
- Горбатова Д.М., Литвинова С.А., Дурнев А.Д., Середенин С.Б. Протективное влияние афобазола на потомство крыс, подвергнутых воздействию торфяного дыма. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2014; 158: 614–9. <https://doi.org/10.1007/s10517-015-2830-z>

References

1. Delfino R.J., Brummel S., Wu J., Stern H., Ostro B., Lipsett M., et al. The relationship of respiratory and cardiovascular hospital admissions to the southern California wildfires of 2003. *Occup. Environ. Med.* 2009; 66(3): 189–97. <https://doi.org/10.1136/oem.2008.041376>
2. Kunii O., Kanagawa S., Yajima I., Hisamatsu Y., Yamamura S., Amagai T., et al. The 1997 haze disaster in Indonesia: its air quality and health effects. *Arch. Environ. Health.* 2002; 57(1): 16–22. <https://doi.org/10.1080/00039890209602912>
3. Phuleria H.C., Fine P.M., Zhu Y. Air quality impacts of the October 2003 Southern California wildfires. *J. Geophys. Res. Atmos.* 2005; 110(D7): 1–11.
4. Hanigan I.C., Johnston F.H., Morgan G.G. Vegetation fire smoke, indigenous status and cardio-respiratory hospital admissions in Darwin, Australia, 1996–2005: a time-series study. *Environ. Health.* 2008; 7: 42. <https://doi.org/10.1186/1476-069x-7-42>
5. He C., Miljevic B., Crilley L.R., Surawski N.C., Bartsch J., Salimi F., et al. Characterisation of the impact of open biomass burning on urban air quality in Brisbane, Australia. *Environ. Int.* 2016; 91: 230–42. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.02.030>
6. Naeher L.P., Brauer M., Lipsett M., Zelikoff J.T., Simpson C.D., Koenig J.Q., et al. Woodsmoke health effects: a review. *Inhal. Toxicol.* 2007; 19(1): 67–106. <https://doi.org/10.1080/08958370600985875>
7. Vokina V.A., Novikov M.A., Elfimova T.A., Bogomolova E.S., Alekseenko A.N., Sosedova L.M. Effects of wildfire emission on the morphofunctional state of the central nervous system in white rats. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2019; 98(11): 1245–50. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-11-1245-1250> (in Russian)
8. Ukhov Yu.I., Astrakhantsev A.F. Morphometric methods in assessing the functional state of the testes. *Arkhiv anatomii gistologii i embriologii*. 1983; 84(3): 66–72. (in Russian)
9. Rebrova O.Yu. *Statistical analysis of medical data. Application of the STATISTICA application package [Statisticheskiy analiz meditsinskikh danykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA]*. Moscow: MediaSfera; 2002. (in Russian)
10. Larson T.V., Koenig J.Q. Wood smoke: emissions and noncancer respiratory effects. *Annu. Rev. Public Health.* 1994; 15: 133–56. <https://doi.org/10.1146/annurev.pu.15.050194.001025>
11. Nolte C.G., Schauer J.J., Cass G.R., Simoneit B.R.T. Highly polar organic compounds present in wood smoke in the ambient environment. *Environ. Sci. Technol.* 2001; 35(10): 1912–9. <https://doi.org/10.1021/es001420r>
12. Moline J.M., Golden A.L., Bar-Chama N., Smith E., Rauch M.E., Chapin R.E., et al. Exposure to hazardous substances and male reproductive health: a research framework. *Environ. Health Perspect.* 2000; 108(9): 803–13. <https://doi.org/10.1289/ehp.00108803>
13. Bergh A. Local differences in Leydig cell morphology in the adult rat testis: evidence for a local control of Leydig cells by adjacent seminiferous tubules. *Int. J. Androl.* 1982; 5(3): 325–30. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.1982.tb00261.x>
14. Mori H., Christensen A.K. Morphometric analysis of Leydig cells in the normal rat testis. *J. Cell Biol.* 1980; 84(2): 340–54. <https://doi.org/10.1083/jcb.84.2.340>
15. Sayapina I.Yu., Tseluyko S.S. Dynamics of quantitative indicators of Leydig cells under the adaptation of organism to low temperatures. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal*. 2011; (2): 84–7. (in Russian)
16. Rajeswary S., Kumaran B., Ilangovan R., Yuvaraj S., Sridharb M., Venkataraman P., et al. Modulation of antioxidant defense system by the environmental fungicide carbendazim in Leydig cells of rats. *Reprod. Toxicol.* 2007; 24(3–4): 371–80. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.03.010>
17. Lamichhane D.K., Leem J.H., Lee J.Y., Kim H.C. A meta-analysis of exposure to particulate matter and adverse birth outcomes. *Environ. Health Toxicol.* 2015; 30: e2015011. <https://doi.org/10.5620/eh.t.e2015011>
18. Holstius D.M., Reid C.E., Jesdale B.M., Morello-Frosch R. Birth weight following pregnancy during the 2003 Southern California wildfires. *Environ. Health Perspect.* 2012; 120(9): 1340–5. <https://doi.org/10.1289/ehp.1104515>
19. Gorbatova D.M., Nemova E.P., Solomina A.S., Durnev A.D., Seredenin S.B. Prenatal effects of peat combustion products and afobazole correction thereof in the rat progeny. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2014; 158: 604–8. <https://doi.org/10.1007/s10517-015-2829-5> (in Russian)
20. Gorbatova D.M., Litvinova S.A., Durnev A.D., Seredenin S.B. Afobazole protects rats exposed to peat smoke in utero. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2014; 158: 614–9. <https://doi.org/10.1007/s10517-015-2830-z> (in Russian)